291-294

23555(16)

动物学研究 1996, 17(3): 291—294 CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853
Zoological Research

蓝氏贾第虫核被膜缺口的电镜观察*

沈剑钊 李靖炎** 卢思奇

Q959.112

(首都医科大学寄生虫学教研室 北京 100054)
(**中国科学院昆明动物研究所细胞与分子进化开放研究实验室 昆明 650223)

摘要 双滴虫类是迄今所知的现存最原始的真核生物类群。以蓝氏贾第虫作为双滴虫类的代表，对其细胞核进行了电镜观察。除了未见有核仁外，还发现其核被膜的横切面上存在有缺口。在缺口的边缘处，核内膜与核外膜是相互连接着的，表明并非切片时所造成的假象。核被膜缺口处常有一核纤层样的薄层分隔核质与细胞质。用高锰酸钾固定细胞以求只保存膜结构时，核被膜缺口仍然可见，上述的薄层即未见到。核被膜缺口的发现证实了李靖炎(1979)的核被膜起源假说所作出的推断。

关键词 蓝氏贾第虫，核被膜缺口，核被膜的起源 电镜

80年代著名进化原生生物学家T. Cavalier-Smith从原生生物中划分出一个可代表原始真核生物的松散类群"源真核生物"(archezoa)。这类生物在其进化过程中尚未获得线粒体，还没有进化出形态学意义上的高尔基氏器，其核糖体也仍保留着原核生物核糖体的状态，即还是70S型的，尚未进化成为80S型的核糖体。目前已知的源真核生物有微胞子虫类、双滴虫类、多核巨变形虫(*Pelomyxa*)、内变形虫(*Entamoeba*)等；毛滴虫类或许也属此类。还有一些种类虽然也没有线粒体，但还不能确定是否属于源真核生物。

现存的源真核生物中，双滴虫类看来又是最原始的，一则大分子rRNA和5.8S rRNA的分子进化研究表明，双滴虫类的代表贾第虫(*Giardia*)是最早从真核生物的进化树中分歧出来的一枝(Sogin, 1991；李靖炎，1992)；二则始终没有人在贾第虫的核中找到核仁。我们的多方研究表明它们还没有核仁(Soloviev, 1963；李靖炎，1996；何勇军等，待发表)，这在所有已知的真核生物迄今还是唯一的。我们的初步电镜观察还表明，在贾第虫的核分裂过程中似乎没有纺锤体形成和参与，这在所有已知的原生生物的生殖核的分裂中也是唯一的(沈剑钊等，1996)。

鉴于双滴虫类及其代表贾第虫的特别原始的进化地位，从细胞核的进化起源研究的角度看，它们的细胞核的资料显得特别重要。但是文献上关于微胞子虫、内变形虫、多核巨变形虫等的细胞核与核分裂虽然都已有不少的研究，然而关于双滴虫类和贾第虫在这方面的资料却是极其稀少的，特别关于其细胞核的亚显微形态学观察(Friend, 1966)。为此我们以蓝氏贾第虫作为代表，对其细胞核作了较细致的观察。本文所报道的结果是我们在其核被膜上的一点发现，国际上尚无人报道过。

---

* 国家自然科学基金资助／** 本文通讯作者
本文1995年7月7日收到，同年11月28日修回

1 材料与方法

所用材料为蓝氏贾第虫 SICH／89／BTRMI(C2)株。该株系从四川一腹泻病人的排泄物中分离得的纯培养（祝虹等，1992）。培养基为改良的 TYI-S-33 液。在 37℃ 下培养于密闭小管中。接种 2—3 天后虫即铺满管壁。

离心收集材料后以 4%戊二醛和 1%锇酸在 4℃ 下作常规的双固定。Epon 812 包埋。切片后以醋酸双氧铀和柠檬酸铅作常规双染。以 H-300 和 JEM-100 透射电镜进行观察。

为求只固定膜结构，部分材料以 0.6%高锰酸钾(pH7.2)在 4℃ 下固定 4—5 h。包埋与染色同上。

2 结果与讨论

蓝氏贾第虫体扁，呈倒梨形，前端钝圆，两侧对称，有 4 对鞭毛，腹面有 1 大吸盘。身体前部左右各有 1 个细胞核。核小，作椭圆形，扁，长约 1 μm，宽 0.7—0.9 μm，厚 0.3—0.5 μm，故每个核的体积都在 0.5 μm 以下。因此，普通光学显微镜下观察是相当困难的。

在电镜下细胞核的结构显得较为简单，核中既无核仁，也没有鼠贾第虫核中所具有的那种中央大异染色质团。核质较为均匀，只是有时可以看到高度致密的异染色块，后者多半贴在核被膜的内侧。核内有时可以看到较密集的染色质。我们另外的工作表明，贾第虫细胞核内已经有核骨架（代嘉陵等，1996；文建凡尚未发表的工作）。

蓝氏贾第虫的核被膜很清楚，两层核膜之间的核周腔很清晰。正是在这样的背景下，我们发现贾第虫的核被膜是有缺口的（图版 I：1、2、4）。在核的切面上缺口大小不一，有的切面上看不到缺口（图版 I：3）；有的切面，缺口又不止一个（图版 I：4）。在缺口的边缘处，核内膜与核外膜连续着（图版 I：1、4），说明缺口并不是切片造成的人为假象。通常在核缺口处有一核纤层样的薄层分隔着核质与细胞质（图版 I：2）。这种薄层看来并不是膜性质的结构。

为显示核被膜缺口的存在，部分材料只能用保存膜结构的高锰酸钾溶液固定。在其固定的材料中，膜固然能很好地保存，但是贾第虫核中的物质往往不能象高等植物细胞核中的物质那样丢失干净。但无论如何，核被膜缺口是清楚的（图版 I：4）。值得注意的是，在常规固定的材料中，核被膜缺口处常可见到的那种薄层，在用高锰酸钾固定的材料中，缺口处却见不到，表明那薄层确实不是膜性质的结构。

代嘉陵等（1996）与文建凡按照常规经一系列的选择性抽提所显示出贾第虫核中的核骨架，与一般的真核生物大不相同，贾第虫核中的核骨架固然得以显示，然而核纤层却不能见到。这里有两种可能：一是核纤层是在核进化的稍高阶段方才发生，故贾第虫的核中尚无核纤层；二是，贾第虫已经有了很原始的核纤层，但还耐受不住常规的选择性抽提，因而保存不下来。从前述及核被膜缺口处的薄层来看，属后者的可能性更大。此点有待将来进行较深入的检查。

按照作者之一关于核被膜起源的假说（李靖炎，1979），核被膜在进化上来自于真核细胞的直接原核祖先体内的原始性内质网。后者通过主动运输为染色质所在的核区提供所

需的物质成份。以后原始内质网中直接邻贴着核区的部分逐步扩展，造成一种阻止必要成份逃逸的障碍，这样就形成了核被膜（李靖炎 1995，1996）。按此假说，在核被膜发生之初，核被膜尚不能包围住整个核区，是必然留有缺口的。这种情况在典型的有丝分裂末期，子核核被膜发生之初，也同样可以见到。李靖炎曾试图在原生生物中间找到核被膜缺口的残迹，但长期未能成功。文献上从未有任何这方面的报道，即便在源真核生物中间也没有。研究微胞子虫亚显微结构的专家 E.U. Canning 摄制了许多种微胞虫核的电镜照片，从这些照片上看，核被膜上并无缺口存在。在内变形虫与多核巨变形虫的电镜照片上也看不到。但是在我们发现贾第虫核被膜上有缺口以后，我们在别人所摄制的人体寄生虫电镜图谱中的蓝氏贾第虫照片上也见到了同样的缺口结构，只是摄制者可能未注意到。

核被膜上缺口的残留是一种极其原始落后的性状，对物种的生存竟争颇为不利，为使核内保持着一种特别有利于染色质进行活动的微环境（包括离子环境），核被膜上缺口的存在势必要使有关的生物耗费多得多的能量。但是贾第虫生活在脊椎动物的肠中，营养丰富，此点或者没有多大影响。但这里所说的是原始性状的保持，而不是说寄生生活可以导致核被膜缺口的出现。事实上在远更适应于寄生生活的微胞子虫类、血胞子虫类中都未发现这种缺口。

从双滴虫类的总体上看，完全过消化道寄生生活的其实只有贾第虫等极少的几个属，其他的属（*Trepomonas*、*Gyromonas*、*Trigonomoas*、*Urophagus* 等属）中，有的种在污水中过自由生活，有的种过消化道寄生生活，还有的种两种生活都能过（*Hexamita* 属）。后一属中有的种在形态上很象贾第虫。由此来看，贾第虫的消化道寄生生活历史也不会是极长的。要把其细胞生物学和分子生物学上的各种原始特性都归之于寄生所导致的退化，是不大可能的。

图 版 说 明

图版 1（Plate 1）

1. 蓝氏贾第虫细胞核的切面，示核被膜缺口。在缺口的边缘处（箭头）核内膜与核外膜相连续(The section of the nucleus of *Giardia lamblia*, showing the nuclear envelope opening. At the margin of the opening (arrows) nuclear inner membrane is continuous with nuclear outer membrane.)　×17 420
2. 蓝氏贾第虫的核切面，示核被膜缺口，缺口处有一核纤层样的薄层。箭头示缺口边缘(The section of the nucleus of *G lamblia*, showing the nuclear envelope opening and the nuclear lamina-like thin layer in the opening. Arrows show the margin of the opening)　×16 800
3. 无缺口的蓝氏贾第虫核切面(The section of *Giardia* nucleus without nuclear envelope opening)　×30 000
4. 高锰酸钾固定的蓝氏贾第虫的核切面，示两个小核被膜缺口（Op）。在缺口边缘处两层核膜相互连续。核被膜缺口处的核纤层样薄层已不见(The nucleus of *G. lamblia* fixed with $KMnO_4$ showing two small openings (Op). At the margin of opening two nuclear membranes are continuous with each other. The nuclear lamina-like thin layer in opening is absent)　×35 000

参 考 文 献

李靖炎，1979. 细胞在生命进化历史中的发生. 北京：科学出版社.

李靖炎，1992. 削偶合今祖法的提出. 动物学研究，13(4)：387—396.

李靖炎，1996. 双滴虫与细胞核起源问题的探索. 动物学研究，17（3）：295—299.

沈剑钊、李靖炎、卢思奇，1996. 源真核生物蓝氏贾第虫核分裂的初步观察. 动物学研究，17（3）：295—299.

祝虹、卢思奇、郭增柱等，1992. 蓝氏贾第虫四川株的建立. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志，5：42—44.

Cavalier-Smith T. 1989. Eukaryotic evolution. XIV International Botanical Congress Proceedings. 213-223.

Dai Jia-ling, Li Jing-yan, Lu Si-qi, 1995. The preliminary detection on the nuclear matrix of *Giardia lamblia*. *Cell Research*, 5(2): 273-278

Friend D S, 1966. The fine structure of *Giardia muris*. *J. Cell Biol.*, 20: 317-332

Li Jing-yan, 1995. Characterization of *Giardia* nucleus: Its implication on the nature and origin of the primitive cell nucleus. *Cell Research*, 5(1): 115-124.

Sogin M L, 1991. Early evolution and the origin of eukaryotes Current opinion in genetics and development. 1: 457-473.

Soloviev M, 1963. Cytochemical study of *Lamblia duodenalis*. *Medizin Paraxitol. i Parasit bolezni* (Moscow), 1963: 675-678.

ELECTRON-MICROSCOPICAL OBSERVATIONS ON THE NUCLEAR ENVELOPE OPENINGS OF *Giardia lamblia*

Shen Jianzhao Li Jingyan

(*Laboratory of Cellular and Molecular Evolution, Kunming Institute of Zoology, the Chinese Academy of Sciences, Kunming* 650223)

Lu Siqi

(*Capital University of Medical Sciences, Beijing* 100054)

Abstract

There are evidences showing that diplomonads would be the most primitive eukaryotes among all present-existing organisms. Therefore, the informations about diplomonads nucleus are very important for investigating the origin and early evolution of cell nucleus. However, they are very seldom in literature. The nucleus of *Giardia lamblia* was investigated as a representative of diplomonad nucleus with electron-microscopy.

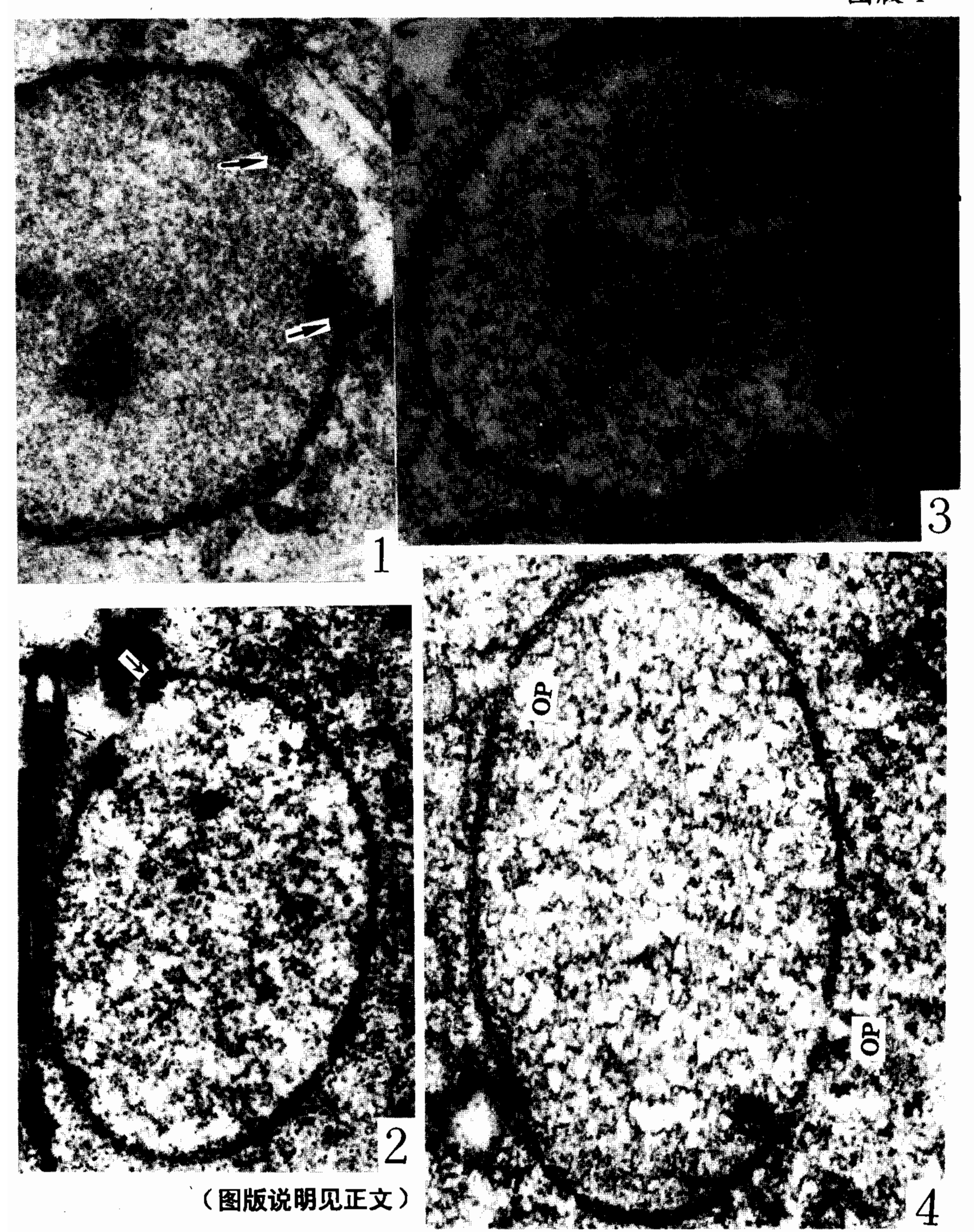
The perinuclear space within the nuclear envelope of *Giardia* is very prominent and on this background we found that there were openings on the nuclear envelope, which were very much larger than the nuclear pores. The sixe of the opening varied in different nuclei. At the margin of the opening, the nuclear inner membrane is continuous with the nuclear outer membrane (Figs.1, 4). Therefore, the opening can not be the artefact due to sectioning.

Usually, at the opening, there is a nuclear lamina-like thin layer separating nucleoplasm from cytoplasm (Fig.2). The layer seems not membranous, because when *Giardia* cells were fixed with $KMnO_4$ to preserve only membranous structures, this layer were absent (Fig.4). The layer might perhaps be a part of the nuclear lamina of *Giardia*. Although after a series of specific extractions to demonstrate *Giardia* nuclear matrix; nuclear lamina could not be found (Dai *et al*., 1996), it might still be exist but only so primitive that could not bear the routine extrations.

Nuclear envelope must have originated from the primitive endoplasmic reticulum in the closest prokaryotic ancestor of eukaryotic cells (Li, 1979). Those parts of the primitive endoplasmic reticulum, which were directly neighboring to the "nuclear region" of the prokaryotic ancestor evolved into nuclear envelope (Li, 1996). According to this hypothesis, at the earlier stage of this evolutionary process, the newly formed primitive nuclear envelope could not enclose the whole nuclear region and there must have remained many openings. The discovery of nuclear envelope openings in *Giardia* nucleus has confirmed this deduction.

Key words *Giardia lamblia*, Nuclear envelope opening, The origin of nuclear envelope

图版 I



（图版说明见正文）